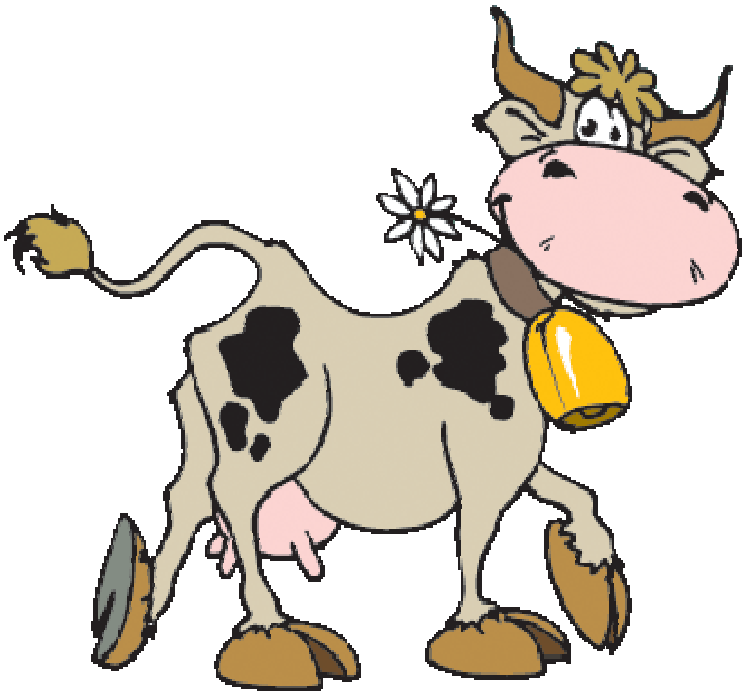
Travail de diplôme

Validation du test de dépistage de l'Intolérance au lactose sur l'Iris ^{13}C de Wagner



Christèle Perrin

Novembre 07-Avril 08

TAB 47ème volée

Ecole Supérieure de la Santé

Laboratoire : FutureLab Analysa à Yverdon

Responsables : Jean-Michel Druon et Mercedes Cipolli

Sommaire

L'intolérance au lactose touche de plus en plus de personnes. D'après les études, il y aurait un quart de la population qui serait atteinte de cette pathologie.

Un test respiratoire pour dépister l'intolérance au lactose est actuellement disponible. Le but de cette technique non invasive est de faire prendre au patient du lactose marqué au ^{13}C et de le faire souffler dans des ballons. Ensuite ces ballons sont analysés à l'aide de l'Iris ^{13}C de Wagner. Si le patient digère le lactose, la molécule de ^{13}C est libérée et se retrouve dans l'air expiré. Alors qu'à l'inverse, si le patient est intolérant au lactose, il ne digère pas le lactose et le ^{13}C n'est pas retrouvé dans l'air expiré.

Intolerance with lactose touches people more and more. According to the studies, there would be a quarter of the population which would be reached of this pathology.

A respiratory test to detect intolerance with lactose is currently available. The goal of this non-invasive technique is to make take to the patient lactose marked with the ^{13}C and to make it blow in balloons. Then its balloons are analyzed using the Iris ^{13}C of Wagner. If the patient digests lactose, the molecule of ^{13}C is released and is found in the expired air. Whereas contrary, if the patient is intolerant with lactose, it does not digest the lactose and the ^{13}C are not found in the expired air.

Table des matières

1. INTRODUCTION 6
1.1. Symptômes 7
1.2. Diagnostique de l'intolérance au lactose 8
1.3. Différence entre allergie et intolérance 9
2. BUT DU TRAVAIL 9
3. DEMARCHE ADMINISTRATIVE 9
4. MATERIELS 10
5. METHODE 10
5.1. Principe du test 10
5.2. Appareil 11
5.2.1. Principe de fonctionnement de l'Iris ^{13}C 11
5.2.2. Résultats donnés par l'Iris 13
5.2.3. Calibration de l'Iris ^{13}C 16
6. ORIGINE DU ^{13}C 18
7. RESULTATS 18
7.1. Résultats des patients du test respiratoire 18
7.2. Résultats des contrôles du test respiratoire à hélicobacter pylori 19
8. CALCULS 20
8.1. Tableau N°3 : Test de reproductibilité (mois de janvier) (p.17) 20
8.2. Tableau N 9: Contrôles N°2 du mois de décembre 20
8.3. Tableau N 10 : Contrôle du mois de janvier 20
8.4. Tableau N 11 : Contrôle du mois de février 20
8.5. Tableau N 12: 1er test de reproductibilité effectué avec Wagner 20
8.6. Tableau N 13: 2ème test de reproductibilité effectué avec Wagner 20
9. DISCUSSIONS DU TEST RESPIRATOIRE 20
9.1. Discussions du tableau N°8 : Contrôle N°1 du mois de décembre 20
9.2. Discussions du tableau N°9: Contrôles N°2 du mois de décembre 20

9.3. Discussions du tableau N°10: Contrôle du mois de janvier 21

9.4. Discussions du tableau N°11: Contrôle du mois de février 21

9.5. Discussion du tableau N°4 : Tout premier test 21

9.6. Discussion du tableau N°5 : Tests effectués sur nous 21

9.7. Discussion du tableau N°6 : Tests repassés après les calibrations 22

10. TEST A L'HYDROGENE POUR DEPISTER L'INTOLERANCE AU LACTOSE 24

10.1. Principe 24

10.2. Appareil 24

10.3. Résultats du test à l'hydrogène 25

11. TEST DU GLUCOSE POUR DEPISTER L'INTOLERANCE AU LACTOSE 26

11.1. Principe 26

11.2. Résultats 26

11.2.1. Patient N°1 26
11.2.2. Patient N°2 (Annexe Y2) 26
11.2.3. Patient N°3 (Annexe Z2) 26
11.2.4. Patient N°4 (Annexe A3) 27

11.3. Comparaison du test respiratoire, du test à l'hydrogène et du test au glucose 27

12. DISCUSSION DES 3 TESTS 27

12.1. Discussion du patient N°1 27

12.2. Discussion du patient N°2 27

12.3. Discussion du patient N°3 28

12.4. Discussion du patient N°4 28

12.5. Discussion générale sur ces 3 tests 28

13. PRIX DES TESTS 28

14. AVANTAGES D'UTILISER LE TEST RESPIRATOIRE SUR L'IRIS 13C 29

15. DÉSAVANTAGES D'UTILISER LE TEST RESPIRATOIRE SUR L'IRIS 13C 29

16. CONCLUSION 30

17. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 31

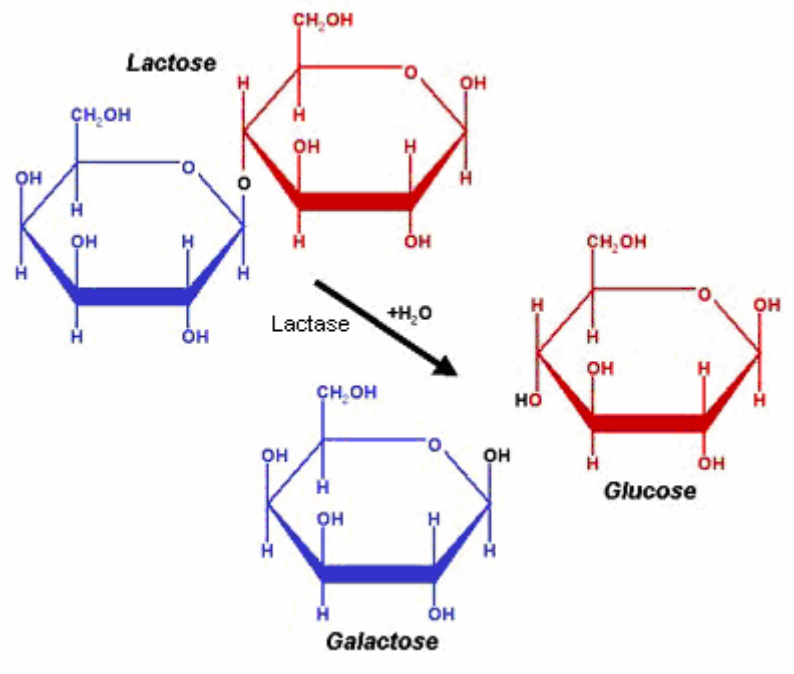
18. LEXIQUE 33

19. REMERCIEMENTS 33

20. ANNEXES 33

1. Introduction

«[3] Le lactose est un glucide se trouvant exclusivement dans le lait » «[10] et les produits laitiers ». « [3] Il est dégradé dans le tube digestif par une enzyme appelée lactase qui le dissocie en galactose et glucose (fig. 1 et 2). »



« [3] Figure 1 : Digestion du lactose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) par la lactase »

« [3] Durant l'enfance, la lactase est présente chez presque tout le monde. Mais chez certaines populations (asiatiques et africaines), la production de cette enzyme diminue à l'âge adulte, » voire même parfois n'a plus lieu, «[3]ce qui ne permet plus la digestion du lait. »

« [17] Tableau représentant le pourcentage d'intolérants au lactose dans le monde :

Pays	Pourcentage d'intolérants au lactose
Nord-Européens	2 % à 15 %
Américains blancs	6 % à 22 %
Centre-Européens	9 % à 23 %
Indiens du Nord	20 % à 30 %
Indiens du Sud	60 % à 70 %
Latino-Américains	50 % à 80 %
Juifs ashkénazes	60 % à 80 %
Noirs	60 % à 80 %
Amérindiens	80 % à 100 %
Asiatiques	95 % à 100 %

Tableau N°1 : % d'intolérance au lactose dans le monde »

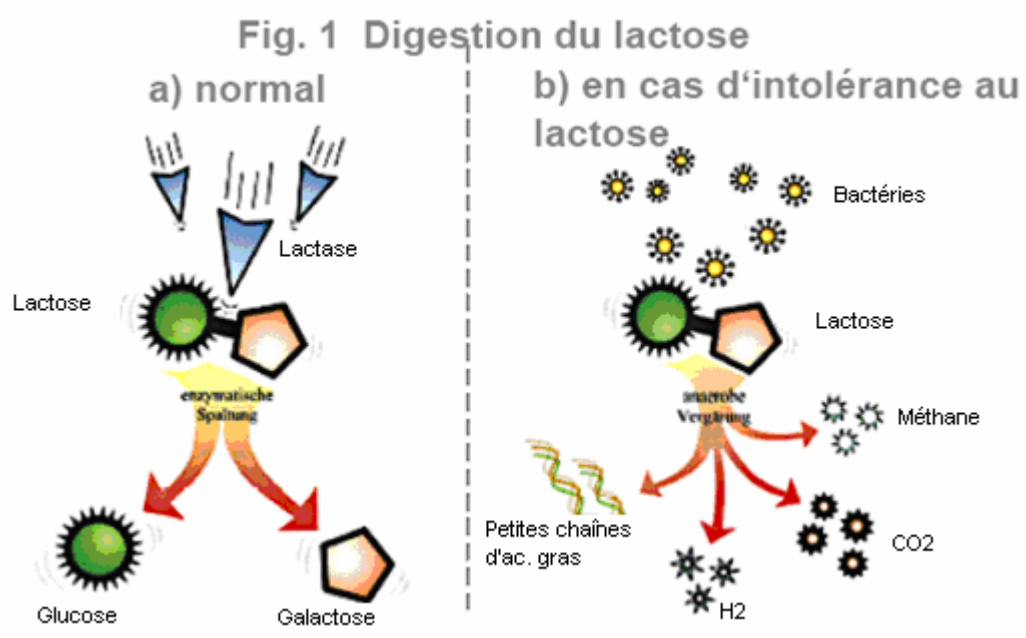
«[3]L'intolérance au lactose est l'incapacité à digérer le lactose à cause de l'absence ou de la quantité insuffisante d'enzymes digestives». «[4]Il y a trois types d'intolérance au lactose :

- l'intolérance de source congénitale : une condition assez rare causée par une absence de lactase à la naissance appelée aussi hypolactasie (intolérance primaire)
- l'intolérance temporaire ou permanente causée par un virus (ex : rotavirus…), une bactérie (ex : salmonelles, shigelles…) ou une maladie » «[20] (maladie cœliaque, maladie de Crohn) » «[4] ayant détérioré les capacités digestives (intolérance secondaire)
- l'intolérance causée par une diminution normale de l'activité de la lactase, ce qui se produit généralement dès la fin de la petite enfance. » Serait-ce dû à une diminution de l'ingestion du lait ?

1.1. Symptômes

« [4] Le lactose qui n'est pas assimilé par l'intestin fermente et cause des douleurs abdominales, des crampes, des ballonnements, des diarrhées (car de l'eau arrive dans l'intestin par un gradient osmolaire[a]), des flatulences ou des nausées. »

«[13] Les douleurs au niveau de l'estomac et de l'intestin sont dues au fait que certaines bactéries du colon métabolisent ce lactose en produisant des métabolites, comme par exemple l'H_2. (fig. 1)»



« [13] Figure 2 : Digestion du lactose »

« [4] Ces symptômes se manifestent généralement dans les deux heures qui suivent l'ingestion du lactose ». « [5] Ces symptômes peuvent compromettre la qualité de vie de celui qui en souffre, mais peut également engendrer des troubles plus graves comme la déshydratation importante chez le nourrisson suite à des diarrhées sévères. »

« [14] Le déclenchement des troubles dépend de la quantité de lactose ingéré, du temps de vidange gastrique et de transit intestinal, et de la nature du produit laitier. » De plus, « [15] chaque personne présente un seuil de tolérance au lactose qui leur est propre. » Mais en

général, « [16] les douleurs se manifestent souvent au delà de 10g (environ 250 ml de lait : voir Tableau N°2) de lactose ingéré. Des quantités très limitées, de moins de 7g, ne provoquent que rarement des réactions d'intolérance. Les aliments à faible teneur en lactose et consommés en petites quantités sont la plupart du temps supportés sans problème. »

Produits	Quantité de lactose
Yogourt (125 ml)	6 g
Lait 2% (250 ml)	9-14 g
Crème glacée vanille (125 ml)	5 g
Crème (15 ml)	0.6 g
Beurre (10 g)	0.06 g
Camembert (100 g)	0.1 g
Gruyère (30 g)	1-2 g
Bleu (30 g)	1-2 g
Parmesan (30 g)	1-2 g

« [21, 22] Tableau N°2 : Quantité de lactose contenu dans certains aliments »

1.2. Diagnostique de l'intolérance au lactose

Pour dépister l'intolérance au lactose plusieurs tests sont utilisés :

1. « [5] Le « Breath Hydrogen test » qui consiste à évaluer la présence d'hydrogène dans l'air expiré par le patient avant et après l'ingestion de 50 grammes de lactose en solution. Le lactose, non digéré dans l'intestin grêle se transforme en gaz sous l'action des bactéries coliques, dont l'hydrogène. Cet hydrogène passe ensuite dans la circulation sanguine pour rejoindre les poumons d'où il est exhalé en même temps que l'air. Plus le niveau d'hydrogène du souffle est élevé, moins performante est la digestion du lactose dans l'intestin grêle et donc la capacité de production de lactase par l'organisme est moins efficace ».

2. Le«[5] Test de Tolérance au Lactose, qui consiste à mesurer le taux de glucose dans le sang après ingestion d'une quantité déterminée de lactose (50 g) » est une des autres méthodes utilisées. Si la digestion du lactose a lieu, la glycémie du patient va augmenter car le lactose est dégradé en glucose et galactose. Par contre, s'il y un déficit en lactase « [5] le taux de glucose sanguin s'élève modérément voir pas du tout ».

3. «[6] Un test génétique est disponible depuis peu. C'est un moyen sûr de détecter l'intolérance au lactose primaire. Le test ne nécessite plus de prise de sang, il se fait sur la base d'un prélèvement de cellules par simple écouvillonnage de l'intérieur de la joue. »

«[7] La lactase est codée par le gène LCT, situé sur le chromosome 2. » « [8]La transmission est autosomique récessive. » « [7] Des mutations qui abolissent complètement l'activité de la lactase provoquent un déficit congénital en lactose (intolérance au lactose primaire). » « [6] Cependant, un résultat négatif ne signifie pas forcément que la personne n'est pas intolérante au lactose, il pourrait s'agir d'un déficit secondaire en lactase. »

4. « [11] La méthode en or est la mesure de l'activité de la lactase sur une biopsie, mais c'est une méthode très invasive ».

1.3. Différence entre allergie et intolérance

« [5] Bien que les deux phénomènes soient totalement différents, la confusion règne joyeusement entre l'intolérance et allergie au lait. Le terme d'intolérance atteste de l'absence totale ou partielle de l'enzyme (dans ce cas, la lactase) assurant la digestion d'un nutriment ou sa métabolisation (assimilation du lactose). L'intolérance ne suscite pas de réaction du système immunitaire.

L'allergie est caractérisée par une réaction immunitaire face à un allergène alimentaire, le plus souvent une protéine (protéines du lait : caséine, alpha-lactalbumine, bêta-lactoglobuline) par production d'IgE. » « [3] L'allergie au lactose oblige à éviter les protéines du lait, alors que l'intolérance au lactose oblige à éviter le sucre du lait. »

« [17] L'allergie au lactose est plus grave et provoque des symptômes qui peuvent impliquer le système digestif (douleurs abdominales, vomissements, diarrhée), les voies respiratoires (congestion nasale, toux, éternuements), la peau (urticaire eczéma, « plaques enflées »), et peut causer des coliques, des otites, des migraines et des problèmes de comportement. Elle touche 1% de la population adulte et 3 % des enfants. »

2. But du travail

Le but de ce travail de diplôme est de valider le test respiratoire pour dépister l'intolérance au lactose sur l'appareil Iris ^{13}C de Wagner. Pour cela nos résultats seront comparés avec ceux du laboratoire de Sion (ICHV = Institut Central des Hôpitaux Valaisan) qui eux ont déjà validé cette technique sur un appareil de la même société mais d'une génération plus ancienne.

3. Démarche administrative

Avant de commencer les analyses, plusieurs démarches administratives ont dû être faites :

- Contacter des gastro-entérologues afin qu'ils nous mettent en contact avec des patients intolérants au lactose
- Demande d'autorisation au médecin cantonal
- Demande d'autorisation à la commission d'éthique de la recherche clinique dont le responsable est le professeur Burnier
- Recherche de laboratoires qui ont déjà validé cette méthode : Olten et Sion

Les documents demandés (mode opératoire, feuille de consentement pour le patient, etc…) ont été envoyés à la commission d'éthique, mais cela ne leur suffisait pas. Ils nous ont convoqué à une commission à laquelle nous devions aller avec le Dr. Voirol, qui est le gastro-entérologue qui a été d'accord de travailler avec nous. Mais cela devenait trop compliqué et nous n'avons pas eu les autorisations nécessaires pour effectuer les tests directement sur les patients. Entre temps nous avons trouvé une autre solution. Quel(s) laboratoire(s) en Suisse ont déjà validé cette technique sur l'Iris-C13 ?

Deux laboratoires ont validé cette méthode, le laboratoire de Sion et d'Olten. L'appareil d'Olten étant en panne, tous leurs échantillons sont envoyés à Sion. Nous avons proposé à l'ICHV de doser les ballons en premier, et de nous fournir le reste pour que nous les dosions puis les résultats seraient confrontés. L'ICHV a accepté cette démarche, les analyses ont donc pu commencer.

4. Matériels

- Appareil : Iris ^{13}C de Wagner, type : Iris Doc 8
- Matériel d'analyse : Air expiré dans 7 petits ballons, volume par ballon : 200 ml
- 7 étiquettes avec des temps différents (0 mn, 30mn, 60 mn, 90mn, 120mn, 150mn, 180 mn)
- 1 embout
- un sachet comprenant 25g de lactose marqué au ^{13}C (enrichissement : 1.18%)
- 100 ml de thé

5. Méthode

5.1. Principe du test

« [9] Le principe des tests respiratoires (breath tests) utilisés en exploration fonctionnelle digestive repose sur la détection, dans les gaz expirés, d'hydrogène ou de gaz carbonique provenant du tube digestif (ou du métabolisme hépatique). Ils impliquent donc l'administration au sujet, le plus souvent par voie orale, mais parfois parentérale, d'un substrat (traceur) dont le métabolisme produira un des 2 gaz cités ci-dessus. L'intérêt de ces tests, réside dans leur caractère non invasif, qui permet d'étudier, sans aucun traumatisme pour les patients, différentes fonctions digestives.

Nous nous limiterons ici aux tests respiratoires au CO_2, utilisant des traceurs marqués avec des isotopes du carbone, qui permettent de distinguer au sein du CO_2 exhalé celui produit par le métabolisme du substrat administré. Deux isotopes du carbone sont disponibles :

- le carbone 14, présent naturellement à l'état de trace, n'est plus utilisable actuellement pour une administration humaine, du fait de sa radioactivité (il faut remarquer que son utilisation est légale dans d'autres pays de l'Union Européenne comme la Belgique par exemple).
- le carbone 13, qui est un isotope non radioactif. Du fait de son abondance naturelle non négligeable (environ 1%), l'utilisation de cet isotope impose d'administrer des quantités significativement plus importantes de substrat, afin de pouvoir détecter des variations d'enrichissement isotopique du CO_2 expiré. »

« [11] Le patient doit avoir un estomac vide (être à jeun depuis une nuit). Durant le test, que de l'eau plate est autorisée ». « [28] Le patient devra souffler dans un ballon (Photo N°1) à un temps 0 (t0), ce sera la valeur basale (zéro).

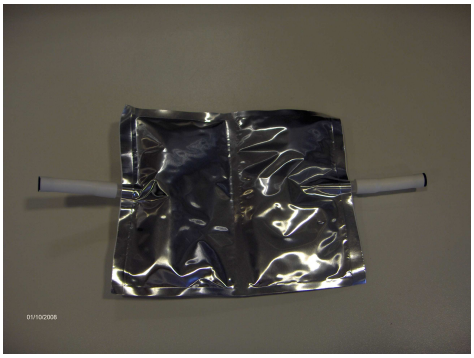


Photo N°1 : petit ballon

Il devra prendre 100 ml de thé dans lequel a été dilué 25g de lactose marqué au ^{13}C, puis toutes les 30 minutes il devra souffler dans un ballon jusqu'au temps 180 minutes. Cela représente 7 ballons. Si le patient possède la lactase, il va digérer le lactose et libérer le ^{13}C qui se retrouvera dans l'air exhalé et donc dans les ballons 2 à 7. » « [25] Le lactose non-digéré est transformé dans le colon par la flore microbienne en acide lactique, hydrogène moléculaire (H_2) et en dioxyde de carbone (CO_2) » donc le ^{13}C ne sera pas libéré et ne se retrouvera pas dans l'air exhalé.

5.2. Appareil

L'appareil utilisé pour le test respiratoire pour dépister l'intolérance au lactose est l'Iris ^{13}C de Wagner (Photo N°2).

Photo N°2 : Iris ^{13}C de Wagner

5.2.1. Principe de fonctionnement de l'Iris ^{13}C

« [25] Le carbone se compose de deux isotopes stables et naturels avec les masses 12 et 13. La fréquence du ^{12}C est de 98.9% et pour le ^{13}C de 1.1%. Dans cette proportion, ils font partie de notre existence élémentaire. Des molécules organiques marquées au ^{13}C sont un moyen sûr

pour le diagnostic non invasif. Ils ne sont pas radioactifs et donc applicables sans problème aussi pour les nourrissons et les femmes enceintes. »

« [26] L'analyseur d'Isotopes Infra-Rouges IRIS permet la détermination précise de la proportion $^{12}C/^{13}C$ dans le CO_2 d'échantillons respiratoires. […] Lors de la spectroscopie d'infrarouge non-dispersive (NDIR) (schéma N°1), on utilise une source lumineuse à large spectre ainsi qu'un détecteur opticoacoustique [b] qui ne réagit qu'aux longueurs d'ondes dans lesquelles le gaz à analyser absorbe ». « [12] Ce détecteur est constitué d'une cellule remplie par le gaz à analyser et d'un microphone condensateur [c]. En traversant la cellule, une partie de la lumière est absorbée, ceci provoque une augmentation de la température qui se traduit par une augmentation de la pression qui est détectée par le microphone condensateur. Pour chaque type de gaz à analyser, il faut une cellule remplie par le même gaz et un trajet optique différent»

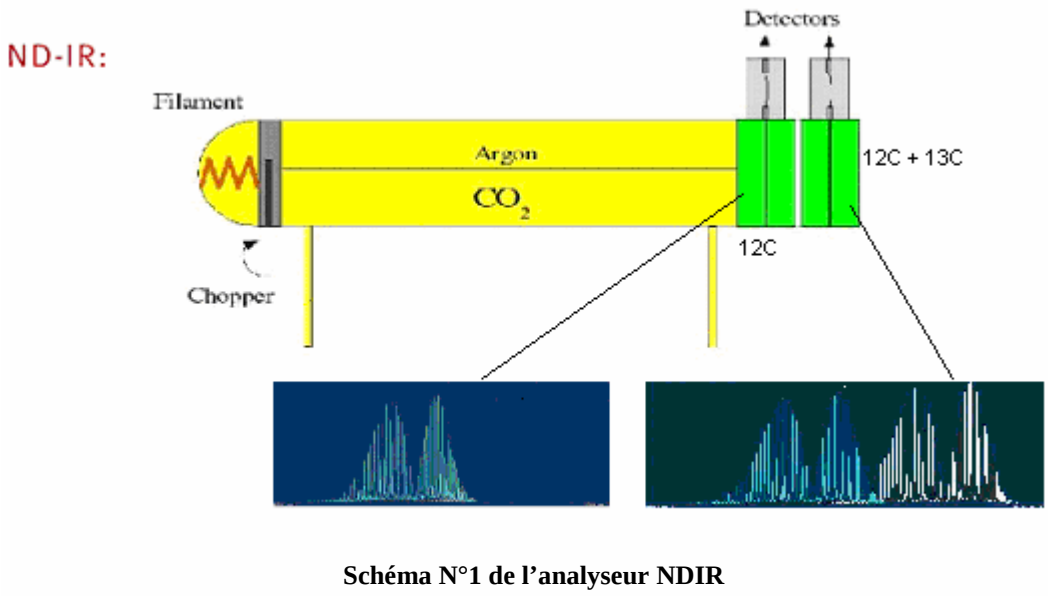
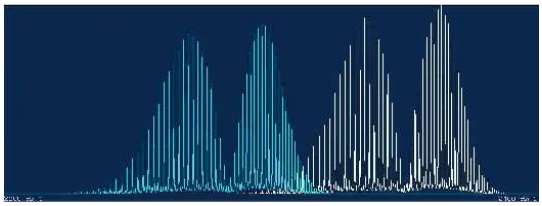


Schéma N°1 de l'analyseur NDIR

« [26] La concentration du gaz à analyser est déterminée en fonction de la différence d'absorption du faisceau lumineux traversant une cellule de gaz de référence et une cellule de gaz à analyser. La NDIR pour la détermination de concentration de $^{13}CO_2$ et $^{12}CO_2$ repose sur le fait, que les spectres d'absorption des modes asymétriques d'oscillation d'allongement des deux molécules sont presque complètement séparés (schéma N°2) et par conséquent les interférences qui pourraient gêner la détermination des concentrations sont dès le début minimes. Afin de réduire encore plus ces interférences, on utilise deux cellules de référence et deux cellules pour le gaz à analyser. »



« [27] Schéma N°2 des spectres d'absorption du ^{12}C (bleu) et ^{13}C (blanc) »

« [26] La sensibilité de cet appareil est de $1/10^6$ pour le rapport des isotopes et il a une stabilité de +/- 0.2‰. En général, la concentration en CO_2 du souffle humain contient entre 0.5 à 6 % vol. »

Les ballons sont fixés sur les ports P1-P6. L'air contenu dans chaque ballon est aspiré par un module de valves. L'air ensuite est pompé jusque dans l'analyseur où il y a 2 chambres. Dans la première chambre, tout le CO_2 est mesuré, donc aussi bien le ^{12}C que le ^{13}C. Dans la deuxième chambre, uniquement le ^{12}C est mesuré. Vu que le ^{12}C et le ^{13}C sont absorbés à des longueurs d'ondes différentes, on va pouvoir les différencier.

Dans la cellule de détection, il y a un gaz (type de gaz non divulgué par le fournisseur à cause d'un secret de fabrication) qui va chauffer les atomes de carbone. Cela va provoquer une pression qui est détectée par une membrane (microphone condensateur). La concentration de ^{12}C et ^{13}C est proportionnelle à l'intensité de la pression exercée sur la membrane. (Schéma N°3)

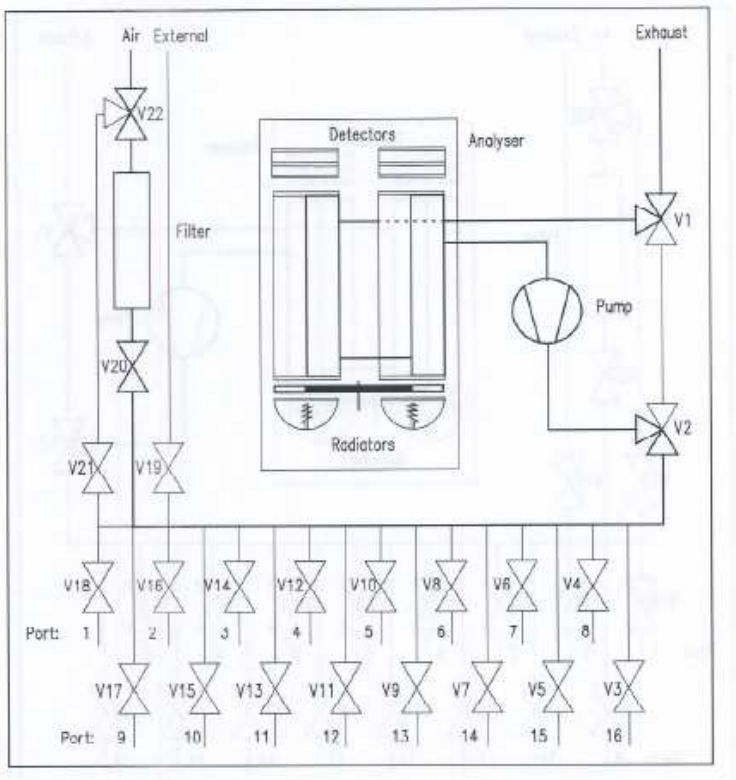
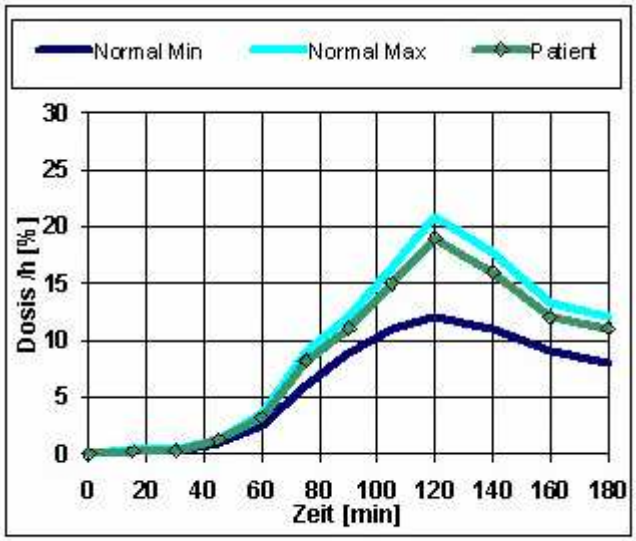


Schéma N°3 : Iris 13C de Wagner

5.2.2. Résultats donnés par l'Iris

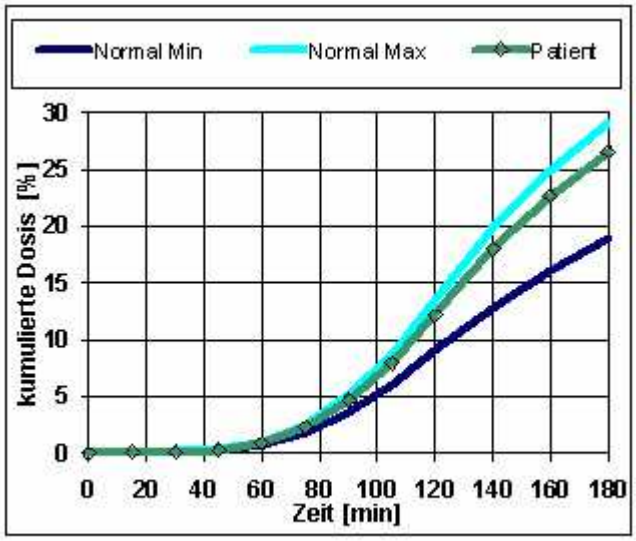
« [11] Le rapport des isotopes $^{12}C/^{13}C$ est mesuré par l'IRIS sur chaque ballon dans lesquels le patient a soufflé. Le système de données d'IRIS acquerra les données d'isotope, et calculera à partir du poids et de la taille du patient, sa production physiologique de CO_2, et va établir deux graphiques.

- Le 1er pour se rendre compte de la cinétique de la digestion du ^{13}C-lactose (%^{13}C-dose/hr.)

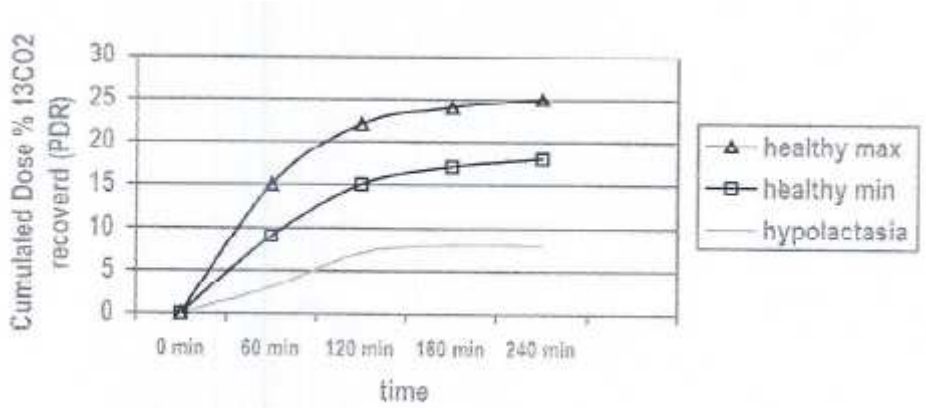


Graphique N°1 : Résultat d'une personne tolérante au lactose

- Le 2ème pour voir la capacité de l'organisme à digérer le lactose (%^{13}C Cum. Dose), si le patient est intolérant, il aura une dose cumulée de ^{13}C inférieur à 15 % après 180 minutes. Et inversement, s'il est tolérant au lactose, il aura une dose cumulée en ^{13}C de plus de 15 % après 180 minutes.



Graphique N°2 : Résultat d'une personne tolérante au lactose »



[28] Graphique N°3 : Résultat d'une personne intolérante au lactose

Les résultats du patient vont être comparés automatiquement par l'IRIS à un contrôle normal qui sera représenté sur le graphique par des normes inférieures et supérieures, afin de comparer les résultats obtenus et de pouvoir les interpréter. Grâce à cette comparaison, on pourra dire si le patient est tolérant, intolérant léger ou sévère au lactose. »

« [12] Les valeurs des rapports isotopiques obtenues lors de l'analyse isotopique du CO_2 sont comparées à un standard international qui est le P .D .B : (Pee Dee Belemnite). Il s'agit d'un carbonate de calcium en provenance de Dee Pee (USA), dont l'abondance en ^{13}C est très élevée ($^{13}C/^{12}C$ = 1.12372%). » « [29] La valeur delta (δ) du standard P .D.B pour le ^{13}C est de 0‰. » « [12] On accède ainsi à l'enrichissement mesuré exprimé en delta pour mille (δ‰) et calculé selon la relation :

$$\delta‰ = 1000*[(^{13}C/^{12}C)_{éch.}/(^{13}C/^{12}C)_{std.}-1]$$

Où $(^{13}C/^{12}C)_{éch}$ est le rapport isotopique de l'échantillon

$(^{13}C/^{12}C)_{std.}$ est le rapport isotopique du standard

Le souffle humain, en général, contient du dioxyde de carbone, dont les isotopes de carbone qui ont un rapport entre 22 et 28‰, généralement exprimé en delta pour mille (δ‰) -22 à -28 δ‰ (PDB). » « [29] La valeur du $\delta‰_{basal}$ de la P.D.B est d'environ - 25‰ ce qui correspond a un rapport $^{13}CO_2/^{12}CO_2$ de 0.010956 (-25‰=1000*(0.010956/0.01123686-1)). Il peut y avoir une légère différence provoquée par la variation des régimes alimentaires, comme les composants du maïs, d'ananas ou de kiwi, qui par leur photosynthèse spécifique obtiennent un certain enrichissement de ^{13}C au lieu de ^{12}C. »

Lors des tests respiratoires en général, on se base sur « [26] la DOB (Delta Over Baseline) qui est calculée selon la relation suivante :

$$DOB = Delta_{after\ tracer\ intale} - Delta_{baseline}$$ »

« [12] Pour chaque sujet testé, un prélèvement de gaz expiré recueilli avant la prise de lactose marqué au ^{13}C (t0) permet la mesure du niveau « basal » de l'enrichissement en ^{13}C, et tous les prélèvements postérieurs à celui-ci sont exprimés par rapport à ce prélèvement basal. On

mesure alors la différence d'enrichissement entre ces échantillons et l'échantillon basal selon la relation :

A un temps Ti : $\delta‰_{ex} = \delta‰_{Ti} - \delta‰_{basal}$ »

« [11] Le fait de donner une quantité (25g) de lactose marqué au ^{13}C avec un enrichissement en ^{13}C bien précis (1,18%), va permettre de définir la capacité de l'organisme à digérer le lactose. »

Donc, la différence d'enrichissement du CO_2 expiré entre les sujets tolérants au lactose (-) et les sujets intolérants (+), est la conséquence de la métabolisation du lactose par la lactase qui se traduit par une augmentation de la valeur mesurée δ‰ lors du test. »

« [11] Le $^{13}CO_2$ est directement dérivé du ^{13}C-lactose, il est digéré et métabolisé dans le petit intestin. Il y a un petit risque que le lactose passe jusque dans le colon et soit digéré ici, ce qui pourrait fausser le résultat. Mais ce risque peut être considéré comme mineur car lors du test respiratoire du lactose, seulement 25g de lactose est utilisé et 12.5g pour un enfant de moins de 10 ans, comparé au test respiratoire utilisant l'hydrogène où on utilise 50g de lactose. De plus, il n'y a pas d'interaction avec les bactéries présentent naturellement dans l'organisme. »

D'après le fournisseur M. Wagner, pour ce test, il est important que le % de CO_2 présent dans le ballon soit compris entre 2 et 5, car la courbe de calibration se fait jusqu'à 5% et un % < 2 n'est pas assez précis.

5.2.3. Calibration de l'Iris ^{13}C

Chaque matin, avant de passer un patient, on effectue 2 calibrations sur l'Iris ^{13}C, une calibration automatique et une calibration de référence.

5.2.3.1. Calibration automatique

La première calibration est une calibration automatique : aucun ballon n'est mis sur l'appareil. Il fait cette calibration sur une source de carbone de concentration en CO_2 stable qui est présente dans une cellule de l'appareil. Ce carbone ne contient pas de ^{13}C. « [11]Ceci va permettre de déterminer le point zéro pour toutes les mesures suivantes. »

5.2.3.2. Calibration de référence

La deuxième calibration est une calibration de référence qui est faite sur un ballon dans lequel une personne a soufflé. Notre fournisseur nous conseille de la faire avant chaque test. « [11]Cette calibration permet de gérer les petites variations du rapport d'isotope relative à une valeur standard. » De plus, à cause de la condensation, de l'eau vient se déposer le long du trajet de l'air avant d'arriver à l'analyseur, et cette eau peut gêner sur la mesure. Cette calibration est en quelque sorte un nettoyeur des canaux.

5.2.3.3. Calibration de concentration

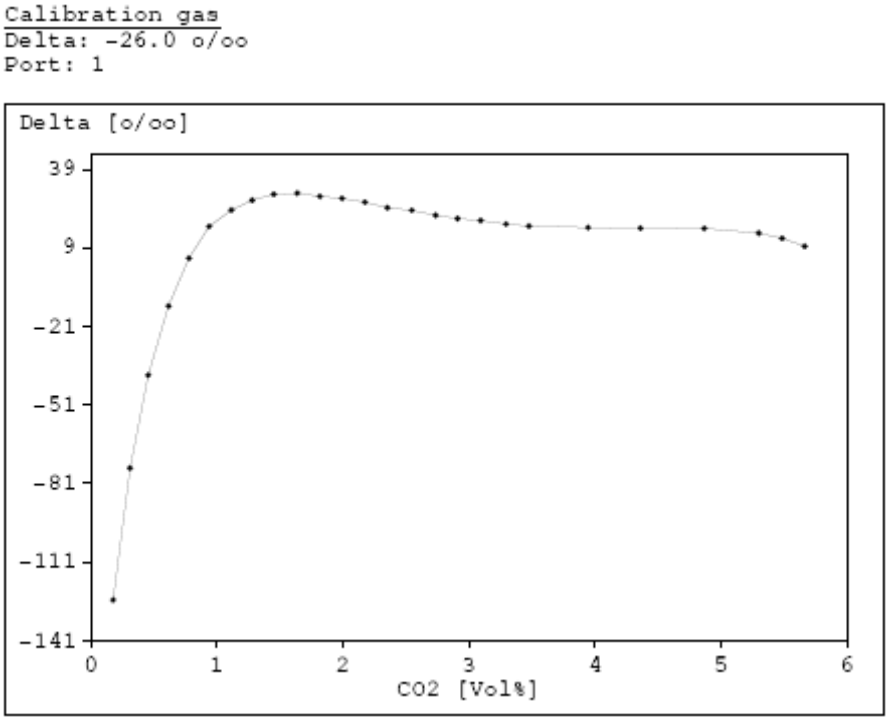
Une fois par mois, on effectue ce qu'on appelle une calibration de concentration. « [26] Cela permet d'ajuster la dépendance de la valeur du delta en ce qui concerne la concentration de CO_2 présente dans le souffle»

«[27] Pour ce type de procédé de calibrage, un gaz de valeur connue de δ et de concentration totale élevée en anhydride carbonique (> 5% volume) est nécessaire. Puisque dans la plupart des endroits, un tel gaz de calibrage n'est pas disponible, le souffle humain est une bonne alternative. On le connaît pour avoir une valeur presque constante de δ en cas de régime

semblable (environ -26 δ‰ pour les pays européens) Un enrichissement élevé en anhydride carbonique peut être réalisé en arrêtant la respiration pendant un moment et faire un certain exercice. Quiconque qui n'a pas récemment consommé un substrat enrichi en ^{13}C peut le faire. » « [26] Si la valeur obtenue n'est pas > 5%, un message d'erreur apparaît : « CO_2 concentration to low ». Dans ce cas, la procédure de calibration doit être recommencée. »

« [27] Après avoir relié l'échantillon au port indiqué (par défaut c'est celui le plus à gauche), le procédé de calibrage peut être commencé. L'échantillon est connecté sur le port 1, mesuré puis dilué avec un gaz nul (venant du filtre de chaux sodée qui ne contient pas de CO_2) puis mesuré, dilué et ainsi de suite jusqu'à 0.3% volume de CO_2 .»

Cette calibration de concentration va nous fournir la courbe de calibration mensuelle (graphique N°4). Chaque point que l'Iris mesure pour la nouvelle courbe, va se retrouver sur l'ancienne courbe et c'est à nous de voir si on peut l'accepter ou pas en la remplaçant. Mais si elle n'a pas fonctionné, l'appareil nous demandera de la refaire.



Graphique N°4 : Courbe de la calibration de concentration du mois de janvier (Annexe A1)

5.2.3.4. Test de reproductibilité

Tous les 6 mois, on effectue le test de reproductibilité. «[27] Ce test permet de vérifier la stabilité du détecteur IR. » On met des ballons, dans lesquels une personne à soufflé, sur chaque port d'échantillon (canal) de l'appareil. En l'occurrence sur notre Iris il y en a 6. « [27] Le CV% de la DOB‰ doit être égal ou inférieur à 10%. ». Avec les mesures du tableau N°3, le CV% est à 2.7%, donc le test de reproductibilité est bon.

#	Name rore name	Test Identifica	Test time [min]	DOB [o/oo]	Delta [o/oo]	CO2 [Vol%]	ex13C [ppm]	Date Time
1	+ -	Single -	0	-	-23.1 ±0.7	5.4503 ±0.0145	-	07.01.2008 14:39
2	+ -	Single -	0	-	-24.1 ±0.5	5.4826 ±0.0131	-	07.01.2008 14:41
3	+ -	Single -	0	-	-24.6 ±0.5	5.4896 ±0.0121	-	07.01.2008 14:43
4	+ -	Single -	0	-	-25.1 ±0.4	5.4948 ±0.0117	-	07.01.2008 14:45
5	+ -	Single -	0	-	-24.6 ±0.5	5.4855 ±0.0119	-	07.01.2008 14:47
6	+ -	Single -	0	-	-24.9 ±0.5	5.4872 ±0.0114	-	07.01.2008 14:49

Tableau N°3 : Test de reproductibilité (mois de janvier) (Annexe B1)

6. Origine du ^{13}C

« [11] Une partie du ^{13}C est fabriqué à partir de composé organique dont 98-99% de leur carbone est enrichi avec l'isotope stable ^{13}C. Une autre partie du ^{13}C est fabriqué à partir de la photosynthèse de certaines plantes comme le maïs, l'ananas ou le kiwi qui fabrique du ^{13}C au lieu de ^{12}C, suffisamment assez pour fournir la base pour leur usage dans le test respiratoire au lactose ^{13}C.

La production naturelle des produits enrichis en ^{13}C par des processus de fermentation des algues va progresser. D'ailleurs, maintenant même des vaches sont nourries avec du maïs et donnent du lait contenant du lactose ^{13}C. »

7. Résultats

Chaque ballon testé, a été analysés aussi bien à Sion qu'à Yverdon sur des appareils venant du même fournisseur.

7.1. Résultats des patients du test respiratoire

	Intolérants sévères au lactose	Intolérants légers au lactose	Tolérants au lactose
Sion	4 (Annexes C1, E1, M1, O1)	2 (Annexes G1, U1)	4 (Annexes I1, K1, Q1, S1)
Yverdon	10 (Annexes D1, F1, H1, J1, L1, N1, P1, R1, T1, V1)	0	0

Tableau N°4 : Tout premier test (Annexes C1 à V1)

	Intolérants sévères au lactose	Intolérants légers au lactose	Tolérants au lactose
Sion	1 (Annexes Y1)	0	1 (Annexe W1)
Yverdon	2 (Annexe X1, Z1)	0	0

Tableau N°5 : Tests faits sur nous (Annexes W1 à Z1)

	Intolérants sévères au lactose	Intolérants légers au lactose	Tolérants au lactose
Sion	2 (Annexes O1, Y1)	0	1 (Annexe S1)
Yverdon	0	0	3 (Annexes A2 à C2)

Tableau N°6 : tests repassés après les calibrations (Annexes O1, Y1, S1, A2 à C2)

	Intolérants sévères au lactose	Intolérants légers au lactose	Tolérants au lactose
Sion	0	2 (Annexes D2, F2)	0
Yverdon	2 (Annexes E2, G2)	0	0

Tableau N°7 : Test après maintenance (Annexes D2 à G2)

7.2. Résultats des contrôles du test respiratoire à hélicobacter pylori

Laboratoire	Contrôle positif [DOB]
Sion	-43.3 (Annexe H2)
Yverdon	17.7 (Annexe I2)

Tableau N°8 : Contrôle N°1 du mois de décembre (Annexes H2 et I2)

Laboratoire	Contrôle négatif [DOB]	Contrôle positif [DOB]
Sion	0.4 (Annexe J2)	21.9 (Annexe L2)
Yverdon	0.4 (Annexe K2)	18.0 (Annexe M2)

Tableau N°9 : Contrôles N°2 du mois de décembre (Annexes J2 à M2)

Laboratoire	Contrôle positif [DOB]
Sion	18.3 (Annexe N2)
Yverdon	16.1 (Annexe O2)

Tableau N°10 : Contrôle du mois de janvier (Annexes N2 et O2)

Laboratoire	Contrôle positif [DOB]
Sion	20.8 (Annexe P2)
Yverdon	19.2 (Annexe Q2)

Tableau N°11 : Contrôle du mois de février (Annexes P2 et Q2)

8. Calculs

8.1. Tableau N°3 : Test de reproductibilité (mois de janvier) (p.17)

CV% = (écart type/moyenne) * 100 = (0.66/24.4)*100 = 2.7%

8.2. Tableau N 9: Contrôles N°2 du mois de décembre

Etant donné qu'il y a que 2 valeurs, nous appliquerons la formule suivante :

Contrôle négatif : CV(%) = [(valeur max. – valeur min.)/ 2* moyenne] * 100 = ((0.4-0.4)/0.8)* 100 = 0%

Contrôle positif : CV(%) = [(21.9 – 18.0)/ 2* 19.95] * 100 = (3.9/ 39.9) * 100 = 9.8%

8.3. Tableau N 10 : Contrôle du mois de janvier

Contrôle positif : CV(%) = [(18.3 – 16.1)/ 2* 17.2] * 100 = (2.2/ 34.4) * 100 = 6.4%

8.4. Tableau N 11 : Contrôle du mois de février

Contrôle positif : CV(%) = [(20.8 – 19.2)/ 2* 20] * 100 = (1.6/ 40) * 100 = 4.0%

8.5. Tableau N 12: 1er test de reproductibilité effectué avec Wagner

CV% = (σ / moyenne) * 100 = (1.0/27.8)*100 = 3.7%

8.6. Tableau N 13: 2ème test de reproductibilité effectué avec Wagner

CV% = (0.4/28.2)*100 = 1.3%

9. Discussions du test respiratoire

9.1. Discussions du tableau N°8 : Contrôle N°1 du mois de décembre

Début décembre, nous avons fabriqué un contrôle positif avec le reste de l'air des ballons positifs à l'hélicobacter pylori (test qui est aussi fait chez nous sur l'Iris) que nous avons passé chez nous. Ce contrôle positif a également été dosé à Sion. Il ressort bien positif (DOB = 17.7) chez nous mais négatif (DOB = - 43.3) à Sion avec un résultat vraiment aberrant. Vu ce résultat, le contrôle positif a sûrement été passé à l'envers par une inversion des ballons t(0) et t (30). Alors, nous avons refait un contrôle positif de nouveau avec le reste de l'air des ballons positifs à l'hélicobacter pylori, et avec la même méthode nous avons fait un contrôle négatif. (Tableau N°9 : Contrôles N°2 du mois de décembre)

9.2. Discussions du tableau N°9: Contrôles N°2 du mois de décembre

Le CV% du contrôle négatif est à 0% et celui du contrôle positif à 9.8%. Ce sont des résultats très concluants. Donc cela prouve que les 2 appareils donnent plus ou moins les mêmes résultats car la limite d'acceptabilité est à 10%.

En accord avec Sion, nous allons faire un contrôle positif et négatif si possible chaque mois, qui sera passé sur les 2 appareils et comparé.

9.3. Discussions du tableau N°10: Contrôle du mois de janvier

Le CV% est à 6.4%. Ce sont des résultats très concluants. Donc, cela prouve que les 2 appareils donnent plus ou moins les mêmes résultats car le CV% est inférieur à 10%.

9.4. Discussions du tableau N°11: Contrôle du mois de février

Ce contrôle a été passé après toutes les maintenances. Le CV% est à 4 %, donc inférieur à 10 %. Cela représente le meilleur résultat des contrôles jusqu'à maintenant. Donc pour hélicobacter pylori, les résultats entre Sion et Yverdon concordent très bien.

9.5. Discussion du tableau N°4 : Tout premier test

10 patients ont fait le test respiratoire pour dépister l'intolérance au lactose ^{13}C de Wagner. Ils ont été dosés sur l'Iris à Sion puis sur le nôtre, à Yverdon.

Les 2 premiers patients qui ont été dosés sur notre appareil n'ont donné aucun graphique $\%^{13}C$-dose/hr. et $\%^{13}C$ Cum. Dose (Annexe R2 et S2) car nous n'avions pas mis la taille et le poids de ces patients. Mais heureusement après coup, ces 2 paramètres ont pu être rajoutés et les graphiques ont pu être faits automatiquement par l'Iris.

Par contre, un autre problème se pose. Sion trouve 4 patients intolérants sévères, 2 patients intolérants légers et 4 patients tolérants alors que nous, nous trouvons les 10 patients testés, intolérants au lactose, donc positifs.

Peut être est-ce dû au fait que les ballons sont dosés une deuxième fois et que le ^{13}C s'est échappé. Ou est-ce que notre appareil détecte le ^{13}C correctement ? Pour vérifier cela, nous avons repris des ballons qui étaient positifs à l'hélicobacter pylori donc qui possède du ^{13}C et nous les avons dosés comme si c'était un test au lactose. Le résultat est très concluant, ce « patient fabriqué » ressort tolérant au lactose donc le ^{13}C présent dans les ballons est détecté. (Annexe T2)

Nous ne savons pas la quantité de perte de l'air contenu dans le ballon entre 2 mesures, mais du moment qu'il y a assez d'air dans le ballon il ne devrait pas y avoir trop de perte de ^{13}C.

Nous avons commandé à Wagner de la poudre de lactose marquée au ^{13}C afin de faire le test sur nous et nous avons soufflé dans un premier ballon qui sera dosé sur notre appareil puis dans un deuxième ballon qui sera dosé à Sion. Les résultats seront comparés. (Tableau N°5)

9.6. Discussion du tableau N°5 : Tests effectués sur nous

A Yverdon, les 2 patients qui ont été dosés sont intolérants sévères, alors qu'à Sion, 1 patient est intolérant sévère et un autre normal. Avec cette discordance, nous avons contacté le fournisseur M. Wagner, afin qu'il nous explique pourquoi il y a une telle différence entre les 2 appareils. Il nous a conseillé de refaire le test de reproductibilité. On obtient un CV% = 2.7% ce qui est très bon, car il doit être inférieur à 10%.(Annexe B2)

Ensuite, il nous a demandé de refaire une calibration automatique, de référence et de concentration avant chaque test au lactose.

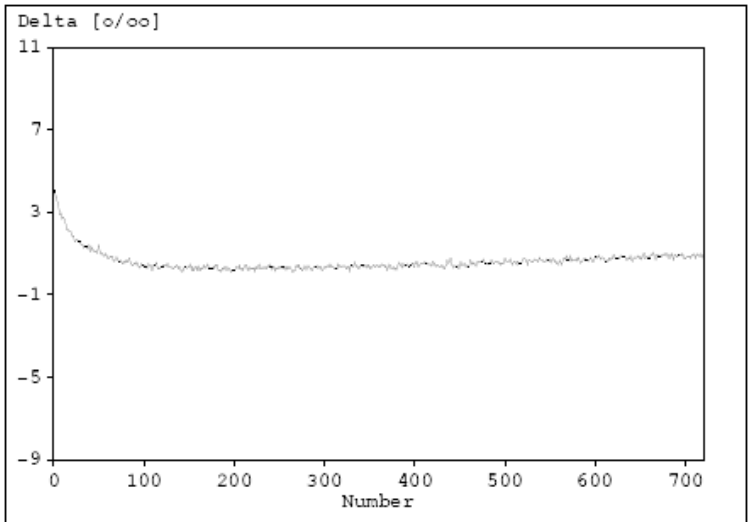
Après avoir refait toutes les calibrations nécessaires, nous avons repassé 3 tests au lactose. (Tableau N°6)

9.7. Discussion du tableau N°6 : Tests repassés après les calibrations

Cette fois nous trouvons tous les patients négatifs alors qu'à Sion, il y a 2 patients intolérants sévères et un tolérant. Ne comprenant pas ce qu'il se passe, nous avons recontacté M. Wagner. Cette fois nous avons décidé de le faire venir afin de vérifier tous les paramètres de l'appareil.

D'abord, nous avons vérifié le fonctionnement de la pompe par un test appelé « checking of pump speed ». Cela permet de voir si la pompe pompe suffisamment d'air des échantillons en un temps de 45-50 secondes. Nous avons dû corriger la pompe à deux reprises car elle ne pompait pas l'air assez rapidement.

Une fois que la pompe était en ordre, nous avons vérifié la stabilité des mesures. L'iris a fait 720 mesures sur l'air ambiant, et a réalisé le graphique suivant :



Graphique N°5 : Stabilité des mesures (Annexe U2)

Le CV% doit être < +/- 0.5%. Avec toutes ces mesures, nous avons obtenu +/- 0.47%. Donc la stabilité des mesures de notre appareil est aussi bonne.

Le test de reproductibilité a été refait, et les résultats suivants ont été obtenus :

Test time [min]	Delta [o/oo]	CO2 [Vol%]	AppmE 13C [ppm]
0	-25.4	4.4	0.0
0	-27.1	4.5	0.0
0	-28.0	4.4	0.0
0	-27.9	4.3	0.0
0	-28.5	4.4	0.0
0	-28.9	4.3	0.0
0	-28.2	4.4	0.0
0	-28.5	4.1	0.0

Tableau N°12 : 1er test de reproductibilité effectué avec Wagner (Annexe V2)

Le CV% est à 3.7%. C'est un CV% très bon pour un test de reproductibilité car il doit être inférieur à 10%. Pourtant M. Wagner, nous a demandé de le refaire car la première valeur est de – 25.4, elle est trop différente des autres. Ceci est sûrement dû à la condensation qui s'est formé dans les canaux de prise d'air à cause d'une trop grande attente entre 2 mesures. Le fournisseur nous conseille de faire une calibration de référence sur le 1er port afin d'éliminer toute cette condensation. Alors nous avons refait le test de reproductibilité après avoir fait une calibration de référence. Et nous avons obtenus les résultats suivants :

Test time [min]	Delta [o/oo]	CO2 [Vol%]	AppmE 13C [ppm]
0	-28.4	4.6	0.0
0	-28.4	3.9	0.0
0	-27.8	4.2	0.0
0	-28.6	4.5	0.0
0	-28.4	4.5	0.0
0	-28.6	4.5	0.0
0	-27.5	4.3	0.0
0	-28.1	4.1	0.0

Tableau N°13 : 2ème test de reproductibilité effectué avec Wagner (Annexe W2)

Le CV% est à 1.3%. Il est très bon. Ce qui veut dire, que la stabilité des mesures de l'IR est bonne.

A Sion, il utilise le test au lactose sur 12 ballons alors qu'à Yverdon la méthode mise en place se fait sur 7 ballons. Avec 12 ballons, la marge d'erreur est plus grande qu'avec 7 ballons. Alors nous avons mis en place la méthode de 12 ballons sur notre appareil. Nous utilisions les petits ballons (photo N°1), mais vu que la quantité de ^{13}C est très petite, il est préférable d'utiliser les grands ballons (photo N°3). D'ailleurs à Sion, ils utilisent les grands ballons, qui ont un volume de 1l (5 fois plus que les petits ballons).

Photo N°3 : grand ballon

Avec toutes les maintenances effectuées, le fournisseur nous a dit que notre appareil était en ordre et que le test au lactose pouvait être effectué. Pourtant 2 personnes de notre laboratoire ont fait le test au lactose et sur notre appareil elles ressortent intolérantes sévères alors qu'elles n'ont jamais eu de symptômes en buvant du lait. Après une maintenance effectuée aussi sur l'appareil de Sion, nous avons repassé les ballons de ces 2 personnes et elles ressortent intolérantes légères. D'où le problème vient-il alors que les 2 appareils sont soi-disant en ordre ? (Tableau N°7)

Du coup, pour savoir ce qui est juste, un test à l'hydrogène ainsi qu'un test au glucose pour le dépistage de l'intolérance au lactose va être fait sur les personnes du laboratoire qui ont fait le test respiratoire au lactose. Les résultats seront comparés avec ces tests et avec les résultats obtenus à Sion pour le test respiratoire.

10. Test à l'hydrogène pour dépister l'intolérance au lactose

10.1. Principe

« [5] Le « Breath Hydrogen test » consiste à évaluer la présence d'hydrogène dans l'air expiré par le patient avant et après l'ingestion de 50 grammes de lactose en solution. Le lactose non digéré dans l'intestin grêle se transforme en gaz sous l'action des bactéries coliques, dont l'hydrogène. Cet hydrogène passe ensuite dans la circulation sanguine pour rejoindre les poumons d'où il est exhalé en même temps que l'air. Plus le niveau d'hydrogène dans le souffle est élevé, moins performante est la digestion du lactose dans l'intestin grêle et donc la capacité de production de lactase par l'organisme est moins efficace ».

Le patient doit être à jeun depuis 12h. « [18] D'abord une première mesure d'H_2 dans l'air est effectuée avant la prise du lactose. Cela détermine la valeur basale. La valeur basale doit être < 20 ppm (parties par millions) pour permettre une interprétation correcte. Puis, le patient doit prendre 50g de lactose dans 200 ml d'eau, l'H_2 sera mesuré toute les 15mn (15, 30, 45, 60mn) la première heure, puis toutes les 30 mn jusqu'à 120 mn (90, 120mn). Si aucune augmentation n'est constatée après 120 mn, il convient d'effectuer d'autres mesures après 150 et 180 mn.

Une concentration de H_2 > 20 ppm et l'apparition de symptômes tels que ballonnements, crampes abdominales et diarrhées sont indicatives d'une intolérance au lactose. » « [23] Une concentration de H_2 comprise entre 20 et 40 ppm indique une légère intolérance au lactose, entre 40 et 80 une intolérance modérée, et une valeur de H_2 supérieure à 80 ppm indique une intolérance sévère au lactose. »

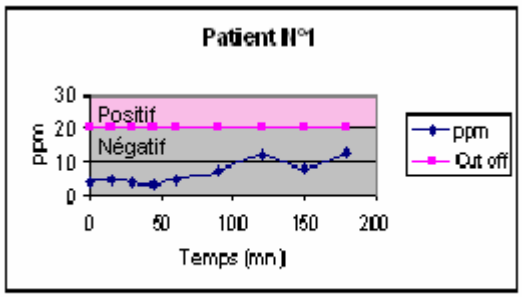
10.2. Appareil

«[19] L'appareil utilisé pour mesurer l'H_2 dans l'air expiré est le Gastrolyzer. Le Gastrolyzer est un appareil qui peut être tenu à la main, qui a été développé pour aider à la détection des troubles gastro-intestinaux. Il mesure précisément la quantité d'H_2 en ppm » « [30] grâce à une sonde électrochimique spécifique à l'H_2. »

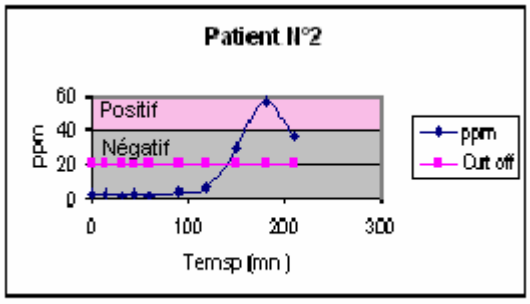
« [19] Un bec en carton est connecté au Gastrolyzer par une pièce en plastique en forme de T. Une valve unidirectionnelle empêche l'air de revenir en arrière. Ce système réduit encore d'avantage les risques d'infection croisée et protège l'instrument de la contamination. »

«[23] Photo N°4 : Gastrolyzer »

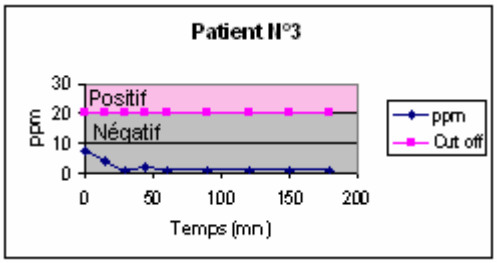
10.3.Résultats du test à l'hydrogène



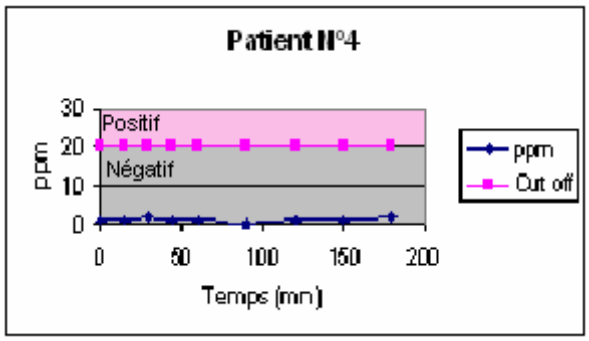
Graphique N°6 : test à l'hydrogène du Patient N°1 (Annexe X2)



Graphique N°7 : test à l'hydrogène du patient N°2 (Annexe X2)



Graphique N°8 : test à l'hydrogène du patient N°3 (Annexe X2)



Graphique N°9 : test à l'hydrogène du patient N°4 (Annexe X2)

11. Test du glucose pour dépister l'intolérance au lactose

11.1. Principe

« [18] Le test au glucose pour dépister l'intolérance au lactose, consiste à faire une prise de sang à jeun, de prendre 50g de lactose dans 200 ml d'eau, et de faire des prises de sang, 30, 60, 120, 180 minutes après la prise du lactose. S'il y a une élévation de la glycémie de plus de 1.7 mmol/l par rapport à la valeur à jeun, le test est normal. Si le glucose augmente de moins de 1.1 mmol/l par rapport à la valeur à jeun, le test est pathologique. Et si le glucose augmente de 1.1 à 1.7 mmol/l par rapport à la valeur à jeun, le test est douteux (zone grise). »

11.2. Résultats

11.2.1. Patient N°1

Pour ce patient, le test au glucose n'a pas été effectué car le patient n'a pas souhaité le faire.

11.2.2. Patient N°2 (Annexe Y2)

Temps [mn]	Glycémie [mmol/l]
0	4.6
30	5.2
60	5.1
120	5.3
180	5.6

Tableau N°14 : Résultats du test au glucose pour le patient N°2

11.2.3. Patient N°3 (Annexe Z2)

Temps [mn]	Glycémie [mmol/l]
0	4.6
30	5.6
60	4.0
120	3.6
180	3.5

Tableau N°15 : Résultats du test au glucose pour le patient N°3

11.2.4. Patient N°4 (Annexe A3)

Temps [mn]	Glycémie [mmol/l]
0	4.8
30	5.3
60	4.0
120	4.6
180	4.9

Tableau N°16 : Résultats du test au glucose pour le patient N°4

11.3. Comparaison du test respiratoire, du test à l'hydrogène et du test au glucose

Patient	Test respiratoire au ^{13}C à Yverdon	Test respiratoire au ^{13}C à Sion	Test à l'hydrogène	Test au glucose	Symptômes
N°1	Intolérant sévère	Intolérant léger	Négatif		Aucun symptôme
N°2	Intolérant sévère	Intolérant sévère	Positif	Positif	Avec symptômes
N°3	Intolérant sévère	Tolérant	Négatif	Positif	Aucun symptôme
N°4	Intolérant sévère	Intolérant léger	Négatif	Positif	Aucun symptôme

Tableau N°17 : Comparaison du test respiratoire, du test à l'hydrogène et du test au glucose

12. Discussion des 3 tests

12.1. Discussion du patient N°1

Sur le graphique N°6, on voit que ce patient est négatif, car toutes les mesures d'H_2 sont inférieures à 20 ppm, donc ce patient est tolérant au lactose. Mais avec le test respiratoire au ^{13}C, il est intolérant sévère à Yverdon et intolérant léger à Sion, ce qui paraît peu plausible car il n'a eu aucun symptôme.

12.2. Discussion du patient N°2

Avec le test respiratoire ^{13}C de Wagner, autant à Sion qu'à Yverdon ce patient est intolérant sévère. Ce test a été confirmé par le test à l'hydrogène, et comme on peut le voir sur le graphique N°7, à partir de 150 minutes les ppm sont supérieur à 20, ce qui veut dire que ce patient est intolérant au lactose. Avec le test au glucose, la glycémie de ce patient augmente de 1.0 mmol/l (Annexe Y2). Vu que la glycémie n'a pas augmenté de plus de 1.7 mmol/l, ce patient est intolérant au lactose. L'intolérance au lactose pour ce patient a été confirmée par les 3 tests. De plus, après avoir pris du lactose pour effectuer ces tests, ce patient a eu l'apparition de symptômes, ce qui renforce le résultat de ces 3 tests.

12.3. Discussion du patient N°3

Avec le test respiratoire au ^{13}C de Wagner, à Yverdon ce patient est intolérant sévère alors qu'à Sion, ce patient est tolérant. Les ppm pour le test à l'hydrogène ne dépassent pas 20 ppm, ce qui veut dire que ce patient est tolérant au lactose. Alors qu'avec le test au glucose, vu que la glycémie n'a pas augmenté de plus de 1.7 mmol/l mais de 1.0 mmol/l (Annexe Z2), ce patient est intolérant au lactose. Ce qui paraît peu plausible car il n'y a eu aucune apparition de symptôme.

12.4. Discussion du patient N°4

Avec le test respiratoire au ^{13}C, ce patient est intolérant sévère à Yverdon et intolérant léger à Sion, ce qui paraît peu plausible car il n'a eu aucun symptôme. Pourtant avec le test au glucose, la glycémie augmente de 0.5 mmol/l par rapport à la valeur à jeun (Annexe A3), ce qui veut dire que ce patient est intolérant. Mais avec le test à l'hydrogène, les 20 ppm ne sont pas dépassé tout au long du test, donc avec ce test ce patient est tolérant au lactose, en plus il n'a pas eu de symptôme.

12.5. Discussion générale sur ces 3 tests

Même après toutes les maintenances effectuées sur l'Iris ^{13}C de Wagner, autant à Sion qu'à Yverdon la plupart des résultats ne concordent pas. Alors que le fournisseur, nous a bien dit que tous les résultats pour les tests au lactose sur ses 2 appareils peuvent être rendus car les résultats sont « soit disant bon. » Mais quels résultats prendre en compte, ceux de Sion ou d'Yverdon ?

Les résultats du test à l'hydrogène correspondent à chaque fois avec la présence ou non de symptômes. Ce qui paraît un test assez fiable.

Tous les tests au glucose effectué en même temps que le test à l'hydrogène, donnent un résultat pathologique, alors qu'il n'y a pas forcément l'apparition de symptômes. Pour quelles raisons ? La glycémie est un paramètre qui varie beaucoup selon ce que l'on fait, donc il suffit certainement d'une moindre variation pour que le test soit faussé.

Mais alors quel test prendre en compte ? Lequel est le meilleur, le plus fiable ?

13. Prix des tests

Un point vaut 90 centimes

- « [25] Test respiratoire de l'Iris ^{13}C de Wagner :

12 ballons, 1 embout et un sachet contenant 25 g de lactose enrichi biologiquement en ^{13}C : 60 pts = 54 frs

Test de résorption au lactose (position 8396.00) : 45 pts = 40.5 frs

Total : 105 pts = 94.5 frs »

- Test à l'hydrogène : Pas de prix trouvé
- «[24] Test au glucose : 5 prises de sang pour le dosage de la glycémie : 45 pts = 40.5 frs »

14. Avantages d'utiliser le test respiratoire sur l'IRIS 13C

- « [11] Cette technique peut être utilisée pour l'Helicobacter pylori, les déficiences en enzymes, la fonction du foie et du pancréas, la motilité gastrique et pour les contrôle de nutrition.
- Elle est non-invasive.
- Elle a une bonne linéarité et précision pour la mesure du rapport d'isotope.
- Son utilisation, sa maintenance et sa calibration sont faciles à effectuer.
- La réalisation du test est très hygiénique car chaque embout pour souffler dans le ballon est à usage unique.
- Ce test n'a pas besoin de préparation d'échantillons et l'exécution de ce test en routine est facile pour le patient et les infirmières.
- L'interprétation du test se fait automatiquement par le logiciel de l'IRIS qui calcule la cinétique et la capacité de l'organisme à digérer le substrat marqué au ^{13}C.
- Les résultats d'un patient sont automatiquement comparés par l'IRIS à un patient normal pour évaluer l'état du patient.
- Cette technique a été validée par des épreuves cliniques avec des patients sains et des patients présentant la pathologie correspondant.
- L'isotope ^{13}C est non-radioactif et stable est peut être appliqué avec n'importe quel patient aussi bien avec des petits enfants que des femmes enceintes.
- Le substrat est pris oralement par le patient et les ballons soufflés par le patient peuvent être récolté dans n'importe quel lieu (au lit, dans une ambulance, au laboratoire, chez le médecin, et même chez le patient).
- Le test respiratoire permet d'éviter les gastroscopies, les biopsies de l'estomac, de l'intestin ou du foie.
- Ce test permet de faire un diagnostique aussi bien pour le contrôle d'une infection ou pour l'ajustement d'un médicament ou de la nourriture. »
- La quantité de lactose prise est de 25 g ce qui est 2 fois moins qu'avec le test à l'hydrogène et le test au glucose (50 g).

15. Désavantages d'utiliser le test respiratoire sur l'IRIS 13C

- Mauvaise corrélation entre 2 laboratoires qui utilisent la même méthode et les mêmes patients.
- Il n'y a aucun contrôle externe pour vérifier l'exactitude des mesures.
- Le prix du test est plus cher que le test au glucose

16. Conclusion

Les résultats de ce test respiratoire au ^{13}C-lactose de Wagner ne sont pas très concluants. Deux laboratoires qui utilisent le même appareil mais de différentes versions, sur lesquels ont été fait des maintenances par le fournisseur, ne donnent pratiquement jamais les mêmes résultats. Ceci sans aucune explication possible, même le fournisseur ne sait pas pourquoi il y a des différences inter-labo mais d'après lui tous les résultats peuvent être rendus. Mais lesquels sont les plus justes, ceux de Sion ou d'Yverdon ? Est-ce possible dans un test de trouver tout le monde intolérant sévère comme à Yverdon ? Sommes-nous tous malades ? D'après le fournisseur, oui c'est tout à fait possible même si aucun symptôme n'est présent. Réponse quelque peu aberrante non ? Mais à mon avis les résultats de Sion sont les plus justes car ils ne trouvent pas tout le monde intolérant sévère, et leurs mesures ont l'air plus précises. Leurs deltas est a +/- 0.1-0.2 alors que le notre est souvent vers +/- 0.5-0.7.

Difficile de comprendre pourquoi il y a des différences entre ces 2 laboratoires. Mais déjà à la base, le fonctionnement de l'appareil est protégé par des copyrights, donc quand j'ai demandé plus de précisions quant au fonctionnement de cet appareil, aucune réponse ne m'a été donnée. Donc, si on ne sait pas exactement comment fonctionne un appareil, je ne vois pas comment trouver la cause d'une telle différence de résultats.

La comparaison avec 2 autres tests pour dépister l'intolérance au lactose tel que le test au glucose et le test à l'hydrogène, m'ont permis de remettre en doute encore plus les résultats du test respiratoire au ^{13}C-lactose. Les résultats de la glycémie donnent à chaque fois un résultat pathologique comme le test respiratoire au ^{13}C-lactose, donc la méthode ne me paraît pas assez précise, car la glycémie varie beaucoup à cause de multiples facteurs selon l'activité que l'on fait. Alors que les résultats du test à l'hydrogène correspondent à chaque fois avec la présence ou non de symptômes.

Quel test est le plus fiable et précis ?

A mon avis, le test à l'hydrogène est le plus fiable, du fait de la concordance avec les symptômes.

Malheureusement le test respiratoire au lactose-^{13}C de Wagner n'a pas pu être validé au laboratoire d'Yverdon. Trop de choses sont encore floues pour cette méthode et les résultats ne sont pas concluants.

Toutefois tous les résultats des contrôles du test à l'hélicobacter pylori concordent avec ceux de Sion. Donc si le test au lactose n'a pas pu être validé à Yverdon, c'est plus un problème de mise en place de la méthode que de l'automate en lui-même.

Par contre grâce à ce travail de diplôme, et vu qu'il n'y a pas de contrôle externe pour cette appareil, chaque mois en accord avec Sion un contrôle positif sera fait à Yverdon puis envoyer à Sion.

17. Références bibliographiques

[3] (25 novembre 2007) *Intolérance au lactose* [Page web]. Accès : http://fr.wikipedia.org/wiki/Intol%C3%A9rance_au_lactose (page consultée le 5 décembre 2007)

[4] (11 septembre 2006) *Intolérance au lactose* [Page web]. Accès : http://www.servicevie.com/02SANTE/Cle_des_maux/i/maux63.html (page consultée le 5 décembre 2007)

[5] Evrard, F. (7 novembre 2005) *Le lactose : un sucre pas si « lait »* [Page web]. Accès : http://www.lasante.be/dossiers/lactose.htm (page consultée le 5 décembre 2007)

[6] (12 mai 2004) *Diagnostiquer l'intolérance au lactose* [Page web]. Accès : http://www.sanslactose.com/intolerance/imprimable.php?IDT=3 (page consultée le 5 décembre 2007)

[7] Lynn B, J. (2004). Génétique médicale (p. 163) [Page web]. France : Elsevier Masson. Accès : http://books.google.com/books?id=WN_X_Ty3cGMC&printsec=frontcover&dq=g%C3%A8ne+lct&hl=fr (page consultée le 7 décembre 2007)

[8] Benkebil, F. & Roulet, M. (2007) *Intolérance au lactose chez l'enfant : le test génétique va-t-il changer notre approche* [Page web]. Accès : http://www.swiss-paediatrics.org/paediatrica/vol18/n1/pdf/19-21.pdf (page consultée le 7 décembre 2007)

[9] Mion, F. (2000) *Place des tests respiratoires au carbone 13 en Exploration Fonctionnelle Digestive* [Page web]. Accès : http://www.acta-endoscopica.com/a300309.html (page consultée le 12 décembre 2007)

[10] *La malabsorption et l'intolérance au lactose* [Page web]. Accès : http://www.lactel.fr/franc/nut/spemal_inf.htm (page consultée le 17 décembre 2007)

[11] WAT GmbH, Bremen/Germany (20 juin 2000) *13C Stable Isotopes : The Diagnostic Tool* [Page web]. Accès : http://www.wagner-bremen.de/ (page consultée le 21 décembre 2007)

[12] Elbast, W. & Brazier, J.L. (1999). La spectroscopie infrarouge non dispersive, une alternative à la spectrométrie de masse isotopique, cas du test respiratoire à l'urée ^{13}C. *Chaire Médicaments et Grossesse, N°3*, p.229

[13] Station de recherche Agroscope Liebefeld-Posieux ALP, *Intolérance au lactose* [Page web]. Accès : http://www.db-alp.admin.ch/de/publikationen/docs/pub_SchmidA_2006_16175.pdf (page consultée le 30 janvier 2008)

[14] Apfelbaum, M., Romon, M. (2004) *Diététique et nutrition* (page 217) [Page web]. France : Masson. Accès : http://books.google.com/books?id=fZz9MCz8CaAC&dq=%22digestion+du+lactose%22&hl=fr (page consultée le 30 janvier 2008)

[15] *Dosage du lactose et du galactose dans les aliments* [Page web]. Accès : http://www2.univ-reunion.fr/~dbbm/FTP/IUP/iup2_tp_lactose.pdf (page consultée le 30 janvier 2008)

[16] Thut Borner, R. *L'intolérance au lactose: une perturbation de la digestion des hydrates de carbone* [Page web]. Accès : http://www.swissmilk.ch/fr/uploads/media/41_PDF_251.pdf (page consultée le 30 janvier 2008)

[17] De Cotret, L.R. (7 novembre 2005). *L'intolérance au lactose, presque une norme* [Page web]. Accès http://www.passeportsante.net/fr/Actualites/Dossiers/ArticleComplementaire.aspx?doc=lait_lactose_do (page consultée le 31 janvier 2008)

[18] Viollier (2003). *Viomecum* . Suisse : Viollier

[19] Bedfont scientific Ltd & decode.uk (2007) *Aider diagnostiquer les troubles gastro-entestinaux* [Page web]. Accès : http://translate.google.com/translate?hl=fr&sl=en&u=http://www.bedfont.com/&sa=X&oi=translate&resnum=1&ct=result&prev=/search%3Fq%3Dbedfont%26hl%3Dfr%26sa%3DG (page consultée le 4 février 2008)

[20] Naspghan. *Intolérance au lactose chez les enfants* [Page web]. Accès : https://secure.naspghan.org/user-assets/Documents/pdf/diseaseInfo/Lactose-F.pdf (page consultée le 5 février 2008)

[21] Transcontinentale (10 avril 2001) *L'intolérance au lactose et ses conséquences* [Page web]. Accès : http://www.servicevie.com/01alimentation/Conseils/Conseil10042000/conseil10042000.html (page consultée le 5 février 2008)

[22] Trancsontinentale (2007) *Intolérance au lactose* [Page web]. Accès : http://www.servicevie.com/02SANTE/Cle_des_maux/i/maux63c.html (page consultée le 5 février 2008)

[23] Bedfont (janvier 2007) *Breath Hydrogen Monitor* [Page web]. Accès : http://www.bedfont.com/downloads/gastrolyzer_datasheet_eng.pdf (page consultée le 5 février 2008)

[24] Département fédéral de l'intérieur (1er janvier 2004) *Listes des analyses et tarifs.* Berne

[25] E. Dayer, H. Kueffer (octobre 2004) *Caduceus Express* [Page web]. Accès : http://www.ichv.ch/downloads/Publications/2004_10_Intolérance_Lactose_ED_HK_F.pdf

(Page consultée le 5 décembre 2007)

[26] Manuel d'utilisation de l'Iris ^{13}C de Wagner (traduction de Sion) et version original (23 juin 1999)

[27] M. Druon (1er juin 2007) *32 AY Technique C13 (IRIS)* référence : 1530.2.0

[28] Wagner *^{13}C-Breath Test Instructions (WT 4037)* p.25-26

[29] *Fischer Analysen Instrument GmbH : Operating Instructions for the $^{13/12}CO_2$-Breath Test Analyser*

[30] Bedfont Scientifif Ltd (février 2005) *Manuel d'utilisation du Gastrolyzer*

18. Lexique

[a] **Gradient osmolaire** : l'eau va du moins concentré au plus concentré en traversant la lumière intestinale, ce qui amène de l'eau dans l'intestin et provoque des diarrhées.

[b] **Opticoacoustique : optico :** qui a un rapport à la vision, **acoustique** : relatif à la production, perception et à la propagation des sons, donc ici un détecteur optiacoustique est un détecteur très perceptible du son et de ses mouvements.

[c] **Microphone condensateur :** sorte de membrane qui détecte le changement de pression exercée sur elle.

19. Remerciements

Je tiens à remercier :

- Le Dr. Voirol (Gastro-entérologue d'Yverdon)
- Le laboratoire de toxicologie de l'hôpital de Sion (ICHV = Institut Cantonal des hôpitaux Valaisans) plus particulièrement Nicole Beloeil et Sonia Clerc
- Toutes les personnes du laboratoire de FutureLab Analysa d'Yverdon

20. Annexes